

OBSERVAÇÕES SOBRE A PESQUISA DE ANTICORPOS IgM ANTI-PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS, POR IMUNOFLUORESCÊNCIA NO SORO DE PACIENTES COM PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Fernando Tito MOTA (1) e Marcello Fabiano de FRANCO (2)

RESUMO

Observamos em nosso estudo: a) Quantificamos os anticorpos IgTotal e IgM anti-P. *brasiliensis*, por imunofluorescência indireta, em soros de pacientes com paracoccidiodomicose; b) Comparamos estes resultados com a reação de precipitação em tubos, realizada nos mesmos soros; c) Quantificamos os níveis de IgM, por imunodifusão radial, em soros de pacientes com paracoccidiodomicose e comparamos estes resultados com os títulos de anticorpos IgM anti-P. *brasiliensis*, detectados nos mesmos soros, por imunofluorescência indireta; d) Correlacionamos a presença destes anticorpos com a forma clínica de paracoccidiodomicose e o tempo decorrido entre o início da sintomatologia e a vinda do paciente ao hospital. Observamos que: a) Em 68% dos casos, há anticorpos P. *brasiliensis* em soros de pacientes com paracoccidiodomicose; b) A presença destes anticorpos não se correlaciona com níveis séricos elevados de IgM, com sinais de atividade da doença, nem com a presença de anticorpos precipitantes. O significado e a importância do desenvolvimento de anticorpos IgM anti-P. *brasiliensis*, em porcentagem elevada de pacientes com paracoccidiodomicose, ainda permanecem obscuros.

INTRODUÇÃO

A reação de imunofluorescência indireta (RII) para a pesquisa de anticorpos anti-Paracoccidiodes *brasiliensis* (P. *brasiliensis*) como padronizada por FRANCO & col.¹¹ tem sido útil subsídio para o diagnóstico sorológico e controle de tratamento de pacientes portadores de paracoccidiodomicose, atendidos no Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu (FCMBB).

Considerando que: a) Reações de imunofluorescência indireta podem ser realizadas com o uso de conjugados mono-específicos para a demonstração e titulação de anticorpos pertencentes a uma determinada classe de imunoglobulinas^{1,2,3}; b) Tem sido demonstrado, na fase aguda ou de reagudização de algumas doenças infecciosas, aumento de anticorpos específicos do tipo IgM, cuja presença seria, por-

tanto, indicadora de atividade do processo infeccioso¹⁰; c) As precipitinas são os primeiros anticorpos a serem demonstrados no desenvolvimento da paracoccidiodomicose, sendo, portanto, interpretados como indicadores de atividade da doença^{7,8,9}; d) Alguns Autores, baseados nos dois últimos itens, têm discutido a possibilidade dos anticorpos anti-P. *brasiliensis* do tipo precipitina serem anticorpos do tipo IgM^{5,8}.

Resolvemos realizar este trabalho visando: 1. Quantificar os anticorpos anti-P. *brasiliensis*, no soro de pacientes com paracoccidiodomicose, utilizando RII com conjugado anti-IgTotal (anti IgG, IgM e IgA) e RII com conjugado mono-específico anti-IgM; 2. Comparar a presença de anticorpos IgM anti-P. *brasiliensis*, no soro de pacientes com paracoccidiodomicose,

(1) Bolsista do Convênio entre a Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu e a Divisão Nacional do Câncer.

(2) Professor Assistente Livre-Docente do Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, Botucatu, 18600, SP, Brasil

com os resultados da reação de precipitação em tubos, realizada nos mesmos soros; 3. Quantificar os níveis séricos de IgM, por imunodifusão radial, em pacientes com paracoccidioidomicose e comparar estes resultados com os títulos de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis detectados nos mesmos soros, através de imunofluorescência indireta; 4. Tentar relacionar a presença de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis no soro de pacientes com paracoccidioidomicose, com alguns parâmetros clínicos: forma clínica da doença, sinais de atividade e tempo decorrido entre o início da sintomatologia e a vinda do paciente ao hospital

MATERIAL E MÉTODOS

I — Reações sorológicas

Soros — Foram testados 182 soros de 31 pacientes portadores de paracoccidioidomicose, atendidos no HC da FCMBB. Em todos os casos, o diagnóstico foi confirmado por biópsia e/ou exame micológico direto. Os prontuários dos pacientes foram revistos no sentido de se caracterizar a forma clínica da doença e de se relacionar o tratamento instituído e sinais clínicos de atividade da paracoccidioidomicose com o seguimento sorológico. Os pacientes foram divididos em quatro grupos segundo a forma clínica da doença: tegumentar, ganglionar, pulmonar e outras (formas mistas ou afectando outros órgãos ou sistemas). Antes de testados, os soros foram estocados a -20°C, sem adição de preservativos, por tempo que variou entre 3 meses a quatro anos. Durante o período de seguimento dos pacientes no HC (de uma semana até quatro anos), número variável de amostras de sangue foram colhidas de cada paciente, quer para controle de tratamento quer para avaliação da atividade da doença. O tempo, desde o início dos sintomas até a colheita de sangue para a realização do primeiro teste sorológico, variou entre dois meses e um ano. Dos 31 casos, apenas seis já haviam sido anteriormente tratados de paracoccidioidomicose fora do HC da FCMBB.

Reação de imunofluorescência indireta (RII) — Realizada segundo técnica descrita por FRANCO & col.¹¹ com a seguinte modificação: no preparo do antígeno, ao invés do processo de desengorduramento e autoclavagem utilizados no método original, os fungos foram inicialmente formolizados (solução de

formalina a 4%) por cerca de 18 horas; a seguir, foram lavados por três vezes em solução salina tamponada (SST), foram ressuspensos em SST e depositados em lâminas. Cada soro foi testado em RII utilizando conjugado anti-IgTotal, para a demonstração e quantificação de anticorpos IgG, IgM e IgA anti-P. brasiliensis e em RII utilizando conjugado monoespecífico anti-IgM, para a demonstração e quantificação de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis. A especificidade dos conjugados fluoresceïnados (Hyland Travenol International, USA) foi comprovada por imunoelektroforese. Soros com títulos iguais ou superiores a 1/16 foram considerados positivos. Dois soros com anticorpos anti-P. brasiliensis, demonstrados tanto com o uso de conjugado anti-IgTotal como com conjugado anti-IgM, foram tratados com 2-mercaptoetanol, segundo a técnica de UHR & FINKELSTEIN¹⁶. A seguir, os soros foram retestados nas duas RIIs e os títulos obtidos nestas reações, antes e depois do tratamento, foram comparados.

Reação de precipitação em tubos — Realizadas segundo técnica descrita por FAVA NETTO⁶ usando-se os mesmos soros testados nas duas RIIs descritas acima. Desta forma, os resultados obtidos nesta reação puderam ser diretamente comparados com os obtidos nas RIIs.

II — Quantificação de IgM sérica

Soros — Foram quantificados 32 soros de 24 pacientes portadores de paracoccidioidomicose, diagnosticada micológica ou histopatologicamente. A idade dos pacientes variou entre 8-68 anos, sendo a média de 39 anos.

Reação de imunodifusão radial — A determinação da IgM sérica foi realizada segundo o método "Precision", utilizando-se soros padrões e placas de imunodifusão radial, fornecidos em kit comercial (Hyland, Division of Travenol Laboratories, USA). Os níveis normais de IgM foram baseados nos valores para adultos, fornecidos pela firma. Os resultados foram comparados com os títulos de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, detectados nos mesmos soros, por imunofluorescência indireta.

RESULTADOS

A Tabela I mostra os resultados obtidos na RII utilizando conjugado anti-IgTotal, na

T A B E L A I

Resultados das reações de imunofluorescência indireta (RII) e da reação de precipitação em tubos (RPT), realizadas em 182 soros provenientes de 31 pacientes portadores de paracoccidioidomicose, agrupados segundo a forma clínica da doença

Paciente	Forma clínica	Número de soros	Número de Soros Positivos		RPT
			RII-IgTotal	RII-IgM	
A R S+	Ganglionar	5	5	5	4
J C		12	12	0	9
L F J+		4	4	4	4
M S M+		3	3	3	3
A M A	Tegumentar	3	3	0	3
A P		2	2	1	1
A V		10	10	0	8
E P A M		3	3	1	2
E A M+		3	3	3	3
F S*		3	3	0	2
J C*		15	15	0	11
J C		3	3	0	2
L A C		9	9	2	7
L S*		6	6	1	1
M R L*+		5	5	5	5
M T A	5	5	1	1	
A S*	Pulmonar	17	17	0	16
A Z+		2	2	2	2
J M*		11	11	0	10
L B F+		2	2	2	1
A R+	Outras	7	7	3	7
A P T+		3	3	3	1
B C S+		4	4	4	4
C F S+		6	6	1	6
G F+		8	8	6	7
J B D+		4	4	4	4
J B+		5	5	4	4
L F R+		12	12	12	9
M J C+		5	5	5	5
M A S		2	2	0	1
O N F		3	3	0	3

(*) Pacientes que haviam sido tratados anteriormente

(+) Pacientes que apresentaram anticorpos anti-IgM já no primeiro soro testado

RII utilizando conjugado anti-IgM e na reação de precipitação em tubos, em 182 soros de 31 pacientes com paracoccidioidomicose.

Anticorpos IgM anti-P. brasiliensis foram demonstrados em 72 soros correspondentes a 21 pacientes. Destes 21 pacientes, 16 apresentaram estes anticorpos no primeiro soro testado e cinco numa fase posterior da evolução da doença. Nos 16 pacientes, nos quais os anticorpos IgM anti-P. brasiliensis foram encontrados no primeiro soro testado, observou-se ten-

dência à queda progressiva dos títulos com o tratamento e com a melhora clínica.

Nos cinco casos em que estes anticorpos foram demonstrados em fase evolutiva da doença, com o paciente em tratamento, não se observou que o aparecimento destes anticorpos estivesse relacionado com sinais de atividade ou de piora clínica da doença.

Em 10 pacientes não se demonstrou anticorpos IgM anti-P. brasiliensis em nenhuma fase do seguimento sorológico realizado.

Todos os pacientes tiveram anticorpos séricos IgTotal anti-P. brasiliensis, em títulos variáveis, durante toda a evolução.

Todos os pacientes tiveram reação de precipitação em tubos positiva, pelo menos em um dos seus soros testados.

Quanto a relação entre anticorpos anti-P. brasiliensis IgTotal e IgM (Tabela II), verificou-se que todos os soros positivos para anticorpos IgM foram também positivos para anticorpos IgTotal, porém, com títulos sempre menores.

TABELA II

Número de soros distribuídos segundo os títulos (*) de anticorpos IgTotal anti-P. brasiliensis comparados com os títulos de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, determinados por imunofluorescência indireta, nos mesmos soros

Títulos Anticorpos IgM	Títulos — Anticorpos IgTotal						
	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Negativo	17	31	26	26	9	1	—
1/16	—	—	4	4	13	2	—
1/32	—	—	5	4	4	—	—
1/64	—	—	1	4	14	—	—
1/128	—	—	—	—	4	—	1
1/256	—	—	—	—	10	—	2
Total	17	31	36	38	54	3	3

(*) Expressos como a recíproca da diluição do soro

O tratamento com 2-mercaptoetanol, de dois soros com anticorpos IgTotal e IgM anti-P. brasiliensis, tornou negativos os soros na RII com conjugado anti-IgM e não alterou os seus títulos na RII com conjugado anti-IgTotal.

A Tabela III mostra a relação entre os tí-

tulos de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, obtidos por imunofluorescência indireta e a positividade dos soros na reação de precipitação em tubos. Não se pode estabelecer nenhum tipo de correlação entre a positividade dos soros nestas duas reações. Dos 72 soros em que

TABELA III

Número de soros, distribuídos segundo os títulos (*) de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, demonstrados por imunofluorescência indireta, comparados com o resultado da reação de precipitação em tubos, nos mesmos soros

Reação de precipitação em tubos	Títulos — Anticorpos IgM					
	Negativo	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Negativa	9	3	1	—	—	1
+	24	2	5	5	1	2
++	25	3	2	5	1	6
+++	27	10	4	6	—	1
++++	12	3	—	2	2	1
Impediente	13	2	1	1	—	2
Total	110	23	13	19	4	13

(*) Expressos como a recíproca da diluição do soro

se demonstrou anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, a reação de precipitação foi positiva em 62, negativa em quatro e houve seis soros impedientes. Dos 110 soros negativos para anticorpos IgM, a reação de precipitação foi positiva em 88 casos, negativa em nove e 13 soros foram impedientes.

A Tabela IV mostra a relação entre os títulos de anticorpos IgTotal anti-P. brasiliensis, obtidos por imunofluorescência indireta e a positividade dos soros na reação de precipitação em tubos. Dos 182 soros, todos positivos na RII com conjugado IgTotal, apenas catorze foram negativos na reação de precipitação em tubos.

MOTA, F. T. & FRANCO, M. F. de — Observações sobre a pesquisa de anticorpos IgM anti-Paracoccidoides *brasiliensis*, por imunofluorescência, no soro de pacientes com paracoccidoidomicose. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 21:82-89, 1979.

T A B E L A I V

Número de soros, distribuídos segundo os títulos (*) de anticorpos IgTotal anti-*P. brasiliensis*, demonstrados por imunofluorescência indireta, comparados com o resultado da reação de precipitação em tubos, realizada nos mesmos soros

Reação de precipitação em tubos	Títulos — Anticorpos IgTotal						
	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Negativa	6	—	3	—	5	—	—
+	8	10	5	6	10	—	—
++	—	9	12	8	11	—	2
+++	1	7	9	15	15	—	1
++++	—	1	4	5	8	2	—
Impediente	2	4	3	4	5	1	—
Total	17	31	36	38	54	3	3

(*) Expressos como a recíproca da diluição do soro

A Tabela V mostra a relação entre níveis séricos de IgM e os títulos de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*, quantificados em 32 soros de 24 pacientes com paracoccidoidomicose. Os níveis séricos de IgM foram normais em todos os soros. Soros negativos ou com títulos eleva-

dos de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* apresentaram níveis comparáveis de IgM sérica. Não foi possível, portanto, estabelecer nenhuma correlação entre estes dois dados: presença ou ausência de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* e níveis séricos de IgM.

T A B E L A V

Comparação entre os títulos (*) de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*, determinados por imunofluorescência indireta (RII) e níveis de IgM, determinados por imunodifusão radial, em 32 soros de pacientes com paracoccidoidomicose

RII — anticorpos IgM anti- <i>P. brasiliensis</i> (Títulos)	Quantificação de IgM sérica (**) Imunodifusão radial (mg%)	Nº de Soros
Negativo	61—63—90—112—116—147—168—168 168—168—181—201—300	12
1/16	63—139—171—181	4
1/32	139—181—181—201—222—300—301—363	8
1/64	129—139—147—171—181—181—264—264	8
Total		32

(*) Expressos como a recíproca da diluição do soro

(**) Variação normal = 50-391 mg%

T A B E L A V I

Comparação entre o número de casos de paracoccidoidomicose com e sem anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*, demonstrados por imunofluorescência indireta e forma clínica da doença

Forma Clínica	Anticorpos IgM anti- <i>P. brasiliensis</i> Número de Casos		Total
	Positivos	Negativos	
Tegumentar	7	5	12
Ganglionar	3	1	4
Pulmonar	2	2	4
Outras	9	2	11
Total	21	10	31

O resultado do estudo da comparação entre forma clínica da doença e presença ou ausência de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* está expresso na Tabela VI. O resultado da rela-

ção entre o tempo decorrido desde o início da doença até a colheita do primeiro soro e a presença de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* está expresso na Tabela VII.

TABELA VII

Número de casos de paracoccidídomicose, positivos e negativos para anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*, distribuídos segundo o intervalo, em meses, decorrido entre o início da sintomatologia e a vinda do paciente ao Hospital (primeira pesquisa sorológica)

Intervalo, em meses, entre o início da sintomatologia e a pesquisa de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*

Número de casos	Intervalo, em meses, entre o início da sintomatologia e a pesquisa de anticorpos IgM anti- <i>P. brasiliensis</i>					Acima de 10	Total de casos Número
	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10		
Positivos	2	7	4	3	1	4	21
Negativos	1	3	2	0	2	2	10

Não se observou qualquer relação entre a presença de anticorpos IgM com qualquer das formas clínicas de paracoccidídomicose, bem como não houve relação entre curto período de sintomatologia (teoricamente indicando fase inicial ativa da moléstia) e aparecimento destes anticorpos.

DISCUSSÃO

Acreditamos que os nossos resultados permitem registrar os comentários abaixo enumerados: 1) A presença de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* pode ser facilmente demonstrada e quantificada por imunofluorescência indireta (Tabelas I, II, III, V). Baseados na literatura médica que revimos, esta é a primeira vez que este achado é relatado. 2) Dos 31 pacientes portadores de paracoccidídomicose que estudamos, 68% apresentaram anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis*, em uma ou mais fases do seguimento sorológico. Este achado coincide com o de outros Autores que documentaram anticorpos específicos do tipo IgM na coccidídomicose¹⁴, histoplasmose⁴ e candidíase¹³. Existem, porém, outras micoses profundas, como a criptococose², onde não se demonstrou, por imunofluorescência, a presença de anticorpos específicos do tipo IgM. 3) Como CORRÊA & GIRALDO⁵, nós também não observamos alterações nos níveis séricos de IgM em soros de pacientes com paracoccidídomicose. Ressalta-se porém, que 62% destes soros apresentaram, em títulos variáveis, anticorpos IgM

anti-*P. brasiliensis*, detectados por imunofluorescência indireta (Tabela V). Conclui-se, portanto, que a simples determinação de IgM sérica, em pacientes com paracoccidídomicose, não se relaciona com a eventual presença de anticorpos séricos específicos do tipo IgM. A falta de correlação entre concentração de imunoglobulinas e reatividade sorológica tem também sido observada em outras micoses^{2,13}. A pesquisa de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* é, portanto, metodologia mais apropriada para o estudo da participação deste tipo de anticorpo no decurso da paracoccidídomicose. 4) Não pudemos estabelecer nenhuma relação entre a presença de anticorpos IgM anti-*P. brasiliensis* e forma clínica ou sinais de atividade da paracoccidídomicose (Tabela VI). Este achado é semelhante ao observado na criptococose humana². 5) Quando da primeira consulta dos pacientes no HC, 100% dos casos apresentaram sorologia positiva para paracoccidídomicose (anticorpos IgTotal anti-*P. brasiliensis*); uma porcentagem significativa destes pacientes apresentou concomitantemente anticorpos específicos do tipo IgM (Tabela I). De acordo com modelo bem estabelecido para a sequência de aparecimento de imunoglobulinas, após determinados tipos de estímulo antigênico, anticorpos do tipo IgM aparecem em primeiro lugar e permanecem elevados por tempo curto, enquanto que anticorpos do tipo IgG aparecem mais tarde, aumentam progressivamente e permanecem elevados por tempo variável^{5,10}. Como a maioria dos nossos pacien-

tes procurou o HC após dois meses do início da sintomatologia (Tabela VII), ou seja, após tempo relativamente longo de doença, é possível que muitos deles já tivessem apresentado anticorpos humorais específicos do tipo IgM, em fase anterior de sua doença. A possibilidade da seqüência acima mencionada da produção de imunoglobulina na paracoccidoidomicose talvez possa vir a ser estabelecida com base em infecções experimentais, nas quais é possível o estudo evolutivo da resposta sorológica dos animais, desde fases iniciais da infecção. 6) Dos casos estudados, quatro pacientes tinham abandonado a terapêutica e retornaram posteriormente ao HC, com sinais de reativação clínica da doença; nesta ocasião, em todos estes pacientes os níveis séricos de anticorpos IgTotal anti-P. brasiliensis eram elevados e não se demonstrou anticorpos específicos do tipo IgM. 7) Não observamos relação entre os resultados da prova de precipitação em tubos e os da RII para pesquisa de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis, realizadas nos mesmos soros (Tabela III). Houve soros em que a reação de precipitação foi fortemente positiva com ausência de anticorpos IgM e vice-versa. Nossos resultados sugerem que os anticorpos precipitantes, forte indício de atividade da paracoccidoidomicose, não são imunoglobulinas do tipo IgM. Parece-nos mais provável, como já sugerido por CORREA & GIRALDO⁵ para esta micose e já demonstrado por CHANDLER & col.⁴ para a histoplasmose, que os anticorpos precipitantes são do tipo IgG (Tabela IV). 8) Como tem sido descrito em outras infecções e micoses profundas, anticorpos com propriedades biológicas diferentes (fixadores de complemento, precipitantes, aglutinantes, fluorescentes) podem pertencer à mesma classe de imunoglobulina^{2,12}. Esta talvez seja a explicação para a discordância verificada em 14 soros, negativos na reação de precipitação em tubos e positivos na RII para a pesquisa de anticorpos IgTotal anti-P. brasiliensis (Tabela IV). Assim sendo, a reação de precipitação e a RII estariam demonstrando anticorpos com atividades biológicas diferentes, mas eventualmente pertencentes à mesma classe de imunoglobulina (IgG). Ressalta-se que na nossa experiência, a presença de anticorpos IgA anti-P. brasiliensis, em pacientes portadores de paracoccidoidomicose, é pouco freqüente (MOTA, F. T. & FRANCO, M.F. — dados pessoais).

Como referido por SINGER & FAVA NETTO¹⁵, grande número de anticorpos diferentes aparecem na paracoccidoidomicose, sendo trabalho importante, ainda a ser realizado, o fracionamento e a caracterização imunológica destes anticorpos e sua correlação com os diversos métodos sorodagnósticos da doença. 9) Na paracoccidoidomicose, a demonstração de primo-infecção, atividade ou reagudização da doença é difícil de ser estabelecida com as provas laboratoriais específicas atualmente disponíveis. O único meio eficaz para a definição destes importantes momentos clínicos da doença é a avaliação concomitante do quadro clínico-sorológico-laboratorial com a demonstração do agente nas lesões ou exsudatos⁹.

O conhecimento do significado e da importância do desenvolvimento de anticorpos do tipo IgM anti-P. brasiliensis, em porcentagem significativa de pacientes com paracoccidoidomicose, talvez possa contribuir para um melhor entendimento do relacionamento agente-hospedeiro nesta micose.

Continuamos, portanto, realizando a pesquisa de anticorpos IgTotal e IgM anti-P. brasiliensis, por imunofluorescência indireta, em todos os pacientes portadores desta micose profunda que procuram nosso serviço. Com maior número de casos e com seguimento sorológico evolutivo mais prolongado contaremos com resultados suplementares, que poderão contribuir para melhor avaliação da utilidade da pesquisa de anticorpos IgM anti-P. brasiliensis na evolução da paracoccidoidomicose.

SUMMARY

Observations on the detection of anti-P. brasiliensis IgM antibodies, by immunofluorescence, in the serum of patients with paracoccidoidomycosis.

The Authors carried out: a) Quantification of anti-P. brasiliensis IgTotal and IgM antibodies, by indirect immunofluorescence, in the serum of patients with paracoccidoidomycosis; b) The same sera were tested in the precipitin reaction and the results were compared with those obtained in the indirect fluorescent antibody tests; c) Determination of IgM levels by radial immunodiffusion technique in sera from patients with paracoccidoidomycosis

and comparison of these levels with those of anti-P. brasiliensis IgM antibodies, measured, in the same sera, by indirect immunofluorescence; d) Attempt to establish correlation between the presence of anti-P. brasiliensis IgM antibodies and clinical forms of paracoccidoidomycosis as well as the time lapse between the beginning of symptomatology and first serological determination for each patient.

It has been observed: a) In 68% of patients with paracoccidoidomycosis, there are anti-P. brasiliensis IgM antibodies; b) The presence of these antibodies did not correlate with IgM serum concentration, with activity or clinical relapse of the mycosis or with presence of precipitin antibodies.

The significance of anti-P. brasiliensis IgM antibodies in a high percentage of paracoccidoidomycosis patients still remains to be established.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o valioso auxílio técnico dos Srs. Luiz Gastão Chamma e Wilson Vergílio Fábio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; CAMARGO, M. E.; MENDONÇA, J. S.; LEVI, G. C. & OSELKA, G. W. — Observações sobre a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma, por imunofluorescência, no soro de pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14: 264-272, 1972.
2. BLUMER, S. O. & KAUFMAN, L. — Characterization of immunoglobulin classes of human antibodies to *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia* 61: 55-60, 1977.
3. CAMARGO, M. E. & AMATO NETO, V. — Anti-Trypanosoma cruzi IgM antibodies as serological evidence of recent infection. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16: 200-202, 1974.
4. CHANDLER Jr., J. W.; SMITH, T. K.; NEWBERRY Jr., W. M.; CHIN, T. D. Y. & KIRKPATRICK, C. H. — Immunology of the mycoses. II. Characterization of the immunoglobulin and antibody responses in histoplasmosis. *J. Infect. Dis.* 119: 247-254, 1969.
5. CORREA, A. & GIRALDO, R. — Study of immune mechanisms in paracoccidoidomycosis. I. Changes in immunoglobulins (IgG, IgM and IgA). *Proc. First Pan-Amer. Symp. PAHO-WHO, 1972*, págs. 245-253.
6. FAVA NETO, C. — Contribuição para o estudo imunológico da blastomicose de Lutz (Blastomicose sul-americana). *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 21: 99-194, 1961.
7. FAVA NETO, C. — The immunology of South-American blastomycosis. *Mycopathologia* 26: 349-358, 1965.
8. FAVA NETO, C. — The serology of Paracoccidoidomycosis: present and future trends. *Proc. First Pan-Amer. Symp. PAHO-WHO, 1972*, págs. 209-217.
9. FAVA NETO, C. — Imunologia da paracoccidoidomicose. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 42-53, 1976.
10. FERRI, R. G.; CALICH, V. L. G. & VAZ, C. A. C. — *Imunologia*. I ed. São Paulo, Editora Edgard Blücher Ltda., 1977.
11. FRANCO, M. F.; FAVA NETO, C. & CHAMMA, L. G. — Reação de imunofluorescência indireta para o diagnóstico sorológico da blastomicose sul-americana. Padronização da reação e comparação dos resultados com a reação de fixação do complemento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 15: 393-398, 1973.
12. GONZALEZ-CAPPA, S. M.; VATTUONE, N. H.; MENES, S. & SCHMUNIS, G. A. — Humoral antibody response and Ig characterization of the specific agglutinins in rabbits during experimental American trypanosomiasis. *Exp. Parasit.* 34: 32-39, 1973.
13. LEHNER, T. — Serum fluorescent antibody and immunoglobulin estimations in candidosis. *J. Med. Microbiol.* 3: 475-481, 1970.
14. SAWAKI, Y.; HUPPERT, M.; BAILEY, J. W. & YAGI, Y. — Patterns of human antibody reactions in coccidoidomycosis. *J. Bact.* 91: 422-427, 1966.
15. SINGER, L. M. & FAVA NETO, C. — Reação de fixação de complemento congulinante na blastomicose sul-americana. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13: 272-278, 1971.
16. UHR, J. W. & FINKELSTEIN, M. S. — Antibody formation. IV. Formation of rapidly and slowly sedimenting antibodies and immunological memory to bacteriophage ϕ X 174. *J. Exp. Med.* 117: 457-477, 1963.

Recebido para publicação em 14/4/1978.